Das Assimilationsprodukt der Kohlensäure in den Chromatophoren der Diatomeen.

von

M. W. BEIJERINCK.

Da ich in der mir zur Verfügung stehenden Literatur keine bestimmte Antwort auf die hier gestellte, für die Planktologie hochwichtige Frage gefunden habe, und ebensowenig auf die weitere, damit zusammenhängende Frage nach der Natur der in der Diatomeenzelle gespeicherten Reservenahrung, erscheint die Mitteilung meiner eigenen Erfahrungen in dieser Beziehung nicht überflüssig. Warum die weitschichtige Diatomeen-literatur eben über dieser Punkte so wenig klare Angaben enthält, folgt aus dem Umstande, dass die zahlreichen Diatomeenforscher wohl viel mikroskopiert aber nur wenig kultiviert haben.

Dennoch ist die Kultur von mehreren, zu den Gattungen *Nitzschia, Navicula* und *Cocconema* gehörigen Arten sehr einfach; nur ist es notwendig dieselben durch das Plattenverfahren von den Grünalgen und ähnlichen Organismen zu trennen und das ist eben die Schwierigkeit, welche die Mikroskopiker nicht überwinden konnten.

Die Hauptbedingung für die Reinkultur der Diatomeen, der Cyanophyceen und vieler niederen Grünalgen ist einfach diese: im Nährboden dürfen nur Spuren von löslichen organischen Körpern vorkommen, während die mineralischen Nährsalze ebenfalls nur in sehr verdünntem Zustand vorhanden sein müssen. [1]) Bei den Cyanophyceen kommt,

1) Die ersten Reinkulturen von Diatomeen erhielt ich im Jahre 1895 bei der Isolierung der Nitritfermente auf gewaschener, Kreide und Chlorammon-haltigem Agar. Vor Kurzem hat auch Richter, Ber. d.d. Botan. Gesellschaft Bd. 21, pag. 493, 1903, über die Reinkultur von Diatomeen geschrieben.

wie ich früher gezeigt habe, noch der begünstigende Einfluss der Abwesenheit von Stickstoffverbindungen, weil diese Organismen den freien Stickstoff zu assimilieren vermögen. Die Diatomeen besitzen dieses Vermögen zwar nicht, doch entwickelen sie sich am besten wenn auch in ihrem Nährboden die Stickstoffverbindungen nur sehr verdünnt vorkommen, sodass für deren Reinkultur der nämliche Boden wie für die Cyanophyceen gut geeignet ist. [1]) Als solche erkannte ich mit strömendem Wasser ausgewaschene Kiesel- oder Agarplatten. Für die Anfertigung der Kieselplatten verfährt man folgendermassen:

Die concentrierte Wasserglaslösung des Handels, wird mit Wasser verdünnt und genau mit Salzsäure titriert. Es wird dann durch Ausprobieren festgestellt mit wie viel Wasser verdünnt werden muss um, gerade bevor die Erstarrung erfolgt, die Salzsäure gut mit der verdünnten Lösung vermischen und in eine Glasdose, worin die Erstarrung zu einer Platte stattfindet, ruhig ausgiessen zu können. Es wird dann im Wasserstrom ausgewaschen, durch Aufgiessen einer Salzlösung, z. B. von $^1/_{20}$ % $K^2 H P O^4$ und $^1/_{20}$ % $NH^4 Cl$, die nötige Nährsalz-quantität hineingebracht, [2]) das Uebermaass der Salzlösung abgegossen, das anhängende Wasser durch schwache Erwärmung abgedunstet und vorsichtig flambiert, wobei man leicht einen sterilen, c.a. 3 % Kieselsäure haltigen Boden, mit schön glänzender Oberfläche erhält. Hierauf wachsen sowohl Grünalgen wie Diatomeen sehr üppig und bei Fortlassung des Ammonsalzes auch die Cyanophyceen.

Ein ebenso gutes Resultat gibt die Kultur auf scharf ausgelaugtem Agar, welcher übrigens auf die gleiche Weise

1) Oligonitrophilie bij Cyanophyceen. Centrbl. f. Bacteriologie, 2t Abt. Bd. 7, p. 562, 1901.

2) Und mit 3 % Cl Na versetzt, wenn es sich um die Kultur von Meeresdiatomeen handelt.

behandelt wird. Sowohl der Wasserglaslösung wie dem Agar kann zuvor Kreide zugesetzt werden, was z. B. bei Versuchen mit den Nitritfermenten notwendig ist.

Um Diatomeenkolonien auf diesen festen Böden zu erhalten kann man sowohl Gartenerde wie Grabenschlamm darauf zur Aussaat bringen. Dass die Gartenerde sehr reich an Diatomeen ist, habe ich bei einer früheren Gelegenheit schon nachgewiesen.

Die Ursache warum ich eben nun in diesem Zusammenhang die Einzelheiten der Kultur bespreche, ist, dass ich die gleichen Diatomeenarten dabei unter sehr verschiedenen Ernährungsbedingungen kennen lernte und gerade dadurch Sicherheit erlangte in Bezug auf das Kohlensäure-assimilationsprodukt derselben.

Es handelt sich hierbei nämlich um *fettes Oel*, und es ist bekanntlich sehr leicht diesen Körper vermittelst der Osmiumsäurereaction nachzuweisen sobald es in freien Tropfen in den Zellen liegt, viel schwieriger dagegen während es noch im Protoplasma, hier also in den Chromatophoren eingeschlossen oder besser gesagt, gelöst ist, doch gelingt auch dieses, wenn man die Farbetönungen beleuchteter und verdunkelter, mit Osmium behandelter Chromatophoren nur mit den nötigen Vorsicht vergleicht.

Glycogen, Stärke und Paramylum fehlen bei allen von mir untersuchten Diatomeen, centrischen sowohl wie pennaten, vollständig; selbst dort wo in den Chromatophoren ein Pyrenoid erkennbar zu sein scheint, konnten keine deutlichen mit diesen Stoffen angefüllten Amylumheerde erkannt werden. [1])

Die Kulturbedingungen lehrten folgendes: so lange die Diatomeen kräftig genug wachsen um das gebildete Oel

1) Schütt, Bacillariaceen in Natürl. Pflanzen-familien. Thl. I, Abt. 1b, pag. 47, 1896 sagt dagegen: „Die Chromatophoren mancher Arten besitzen eine oder mehrere Pyrenoide mit oder ohne Amylumheerde." Welche Arten hier gemeint sind weiss ich nicht.

zu assimilieren, und in protoplasmatische und andere Körperssubstanzen zu verwandelen, bemerkt man keine Anhäufung desselben und die Chromatophoren enthalten davon nur Spuren. Jede Ursache aber, welche das Wachstum beeinträchtigt, bei übrigen ungestörter Kohlensäureassimilation, gibt zu einer kräftigen und leicht sichtbaren Anhäufung von Oeltropfen Veranlassung, welche zuerst in den Chromatophoren selbst, dann auf deren Oberfläche sichtbar werden, und später die Zellhöhlung ausfüllen, wobei es bis zur vollständigen Verdrängung der gesammten Vacuolen-flüssigkeit gehen kann.

Wie müssen nun aber die Kulturbedingungen beschaffen sein, damit das Wachstum gehemmt wird ohne Schädigung der Kohlensäure-Assimilation?

Dieses ist auf sehr verschiedene Wege zu erreichen, wovon ich hier nur einen besprechen will, welcher auf der Tatsache beruht, dass das Kohlensäureassimilationsprodukt der Diatomeen eben identisch ist mit der durch diese Organismen gespeicherten Reservenahrunge. [1])

Sobald bei übrigens günstigen Lebens- und Wachstumsbedingungen irgend ein für das Wachstum notwendiges Element fehlt, wird dieser Vorgang etwas herabgesetzt, ohne dass die Funktionen der Einzelzelle dabei beeinträchtigt zu werden brauchen. Dieses Prinzip gibt ein besonders übersichtliches Resultat, wenn das fehlende Element der gebundene Stickstoff ist, und so kommt man zu folgendem Versuche: Ein guter, nach obiger Vorschrift angefertigter *fester Kulturboden*, wird einerseits mit ein weinig z. B $^{1}/_{50}$ % $ClNH^{4}$ versehen und andererseits ohne ge-

---

1) Es ist notwendig Letzteres scharf zu betonen, weil es eine ziemlich allgemeine Regel, ich möchte beinahe sagen ein Naturgesetz ist, dass bei übrigens günstigen Wachstumsbedingungen die Zellen von allerlei Tieren, Pflanzen und Mikroben, bei Mangel an assimilierbarem Stickstoff fettes Oel erzeugen, so weit diese Zellen überhaupt zur Fettbildung geeignet sind.

bundenem Stickstoff verwendet. Zur Aussaat auf beiden Böden verwendet man am besten eine schon früher hergestellte Diatomeenkultur, doch kann auch Diatomeen-haltige Gartenerde oder Grabenschlamm ohne weiteres verwendet werden.

Nach ein oder zwei Wochen ist das Resultat ganz unzweifelhaft. Die Kultur auf dem Chlorammon-haltigen Boden ist stark gewachsen und hält kein deutlich bemerkbares Oel; dagegen hat die Kultur auf dem Stickstoff-armen Boden mehr oder weniger massenhaft Fett gespeichert.

Auch mit Kulturflüssigkeiten kann mit gleichem Erfolge experimentiert werden, doch muss man dabei den Luftzutritt genau überwachen, um ein wirklich überzeugendes Resultat zu bekommen, was am besten geschieht durch Kultur in sehr dünner Schicht der Nährlösung.

Da ich die gleichen Ergebnisse mit verschiedenen Diatomeenarten der oben genannten Gattungen des Süsswassers und des Meeres erhalten habe, ist an die allgemeine Gültigkeit des Satzes, dass fettes Oel das erste sichtbare Assimilationsprodukt der Kohlensäure in den Diatomeenzellen ist, nicht zu zweifelen.

Ich gehe jedoch noch einen Schritt weiter, denn mikroskopische Erfahrungen haben mir gelehrt, dass auch die übrigen von mir untersuchten Phycochromhaltigen Planktonorganismen, nämlich gewisse Peridineen und Chrysomonadineen z. B. *Phaeocystis pouchetii,* ebenfalls in ihren Chromatophoren fettes Oel erzeugen, während Stärke und Glycogen darin fehlen. Vielleicht ist die Regel auch auf viele höhere Braunalgen anwendbar, wovon ich jedoch nur wenig Erfahrung habe.

Jedenfalls dürfte die Tatsache, dass die Diatomeen Oelbilder sind, Licht werfen auf ihre allgemeine und grosse Bedeutung für das Plankton, indem das Oel wohl als eine sehr zweckentsprechende Schwebeeinrichtung betrachtet werden muss.